

Identificação de metabólitos secundários no extrato etanólico das inflorescências de *Piper arboreum* Aubl. e seu potencial candidacida

Pricianny Galdino Souza¹, Alisson Martins Albino², Renato Abreu Lima³

1. Bióloga (Centro Universitário São Lucas, Brasil). Mestre em Desenvolvimento Regional e Meio Ambiente (Universidade Federal de Rondônia, Brasil).

pprysouza@hotmail.com

<http://lattes.cnpq.br/2773157535403523>

2. Biólogo (Centro Universitário São Lucas, Brasil). Especialização em andamento em Gestão Ambiental (Instituto Federal de Educação Ciência e Tecnologia de Rondônia, Brasil).

alisson.m.albino@gmail.com

<http://lattes.cnpq.br/8089222736244418>

3. Biólogo e Doutor em Biodiversidade e Biotecnologia (Universidade Federal do Amazonas, Brasil). Professor do Instituto de Educação, Agricultura e Ambiente, IEAA-UFAM, Brasil

renatoabreu07@hotmail.com

<http://lattes.cnpq.br/5164284305900865>

<http://orcid.org/0000-0003-0006-7654>

RESUMO

Este trabalho teve como objetivo identificar os metabólitos secundários no extrato etanólico das inflorescências de *Piper arboreum*, e testar sua eficiência no combate ao crescimento do fungo *Candida albicans*. As inflorescências foram coletadas, pesadas e colocadas em estufa, trituradas e imersas em 1mg.mL⁻¹ de etanol. O material adquirido da filtragem foi destilado e o extrato bruto passou por teste de identificação dos metabólitos secundários, sendo feitos os testes de alcaloides, glicosídeos cardiotônicos, cumarinas, flavonoides, taninos, saponinas, triterpeno e derivados antracênicos livres. Os resultados obtidos foram positivos para alcaloides, glicosídeos cardiotônicos, cumarinas, flavonoides, taninos (condensados) e triterpenos. No entanto, obtiveram-se resultados negativos para glicosídeos cardiotônicos (Kedde, Lieberman, Raymond-Marthoud), taninos (hidrolisáveis) e derivados antracênicos livres. No laboratório do Centro Universitário São Lucas foi realizado o teste de sensibilidade antifúngica, onde discos com 5mm de diâmetro com culturas de cepas isoladas do fungo *C. albicans*, foram colocados simetricamente em placas de Petri contendo o meio BDA. Durante 1 minuto discos de papéis filtro foram imersos em 1mg.mL⁻¹ de extrato das inflorescências de *P. arboreum*. Em 1mg.mL⁻¹ de água destilada foram imersos, também, papéis filtro para teste de controle positivo, e para teste de controle negativo foi usado 1mg.mL⁻¹ de produto químico Kasumin®. Verificou-se que após 120 horas do extrato etanólico das inflorescências de *Piper arboreum* incubadas a 25°C o resultado é positivo na cepa de *C. albicans*, onde houve inibição no crescimento do fungo, na concentração de 1mg.mL⁻¹.

Palavras-chave: Amazônia, propriedades medicinais, *Candida albicans*.

Identification of secondary metabolites in extract of ethanolic inflorescences of *Piper arboreum* Aubl. and its potential candidacidal

ABSTRACT

This study aimed to identify the secondary metabolites in the ethanol extract of inflorescences of *Piper arboreum*, and test their effectiveness in combating growing of the fungus *Candida albicans*. The inflorescences were collected, weighed, placed in an oven, ground and immersed in 1mg.mL⁻¹ ethanol. The acquired material filtration was distilled and the crude extract passed through identification of secondary metabolites test, tests for alkaloids being made, cardiac glycosides, coumarins, flavonoids, tannins, saponins, triterpene and antracênicos derived free. The results were positive for alkaloids, cardiac glycosides, coumarins, flavonoids, tannins (condensate) and triterpenes. However, gave negative results for cardiac glycosides (Kedde Lieberman, Raymond-Marthoud) tannin (hydrolyzable) and free antracênicos derived results. In the Faculty Luke laboratory antifungal susceptibility testing was performed on discs with 5mm diameter with cultured isolates of the fungus *C. albicans*, were symmetrically placed in Petri dishes containing PDA medium. For 1 minute disc filter papers were immersed in 1mg.mL⁻¹ extract of inflorescences of *P. arboreum*. In 1mg.mL⁻¹ of distilled water were immersed also filter for positive control test, and negative control test paper was used 1mg.mL⁻¹ chemical Kasumin®. It was found that after 120 hours of the ethanol extract of inflorescences of *P. arboreum* incubated at 25 °C the result is positive in the strain of *C. albicans*, where there was growth inhibition of the fungus in a concentration of 1mg.mL⁻¹.

Keywords: Amazon; medicinal properties; *Candida albicans*.

Introdução

O Brasil é o país que apresenta maior biodiversidade de flora e fauna do Planeta Terra e entre os elementos que a compõem, estão às plantas medicinais que são utilizadas como matéria-prima para a formulação e/ou fabricação de fitoterápicos (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2009).

Estudos de etnobotânica evidenciam a existência de um grande acervo de plantas medicinais cujo avanço científico e para a valoração do saber dos povos tradicionais. Entretanto, grande parte do acervo necessita de estudos que permitam um melhor aproveitamento do potencial das espécies medicinais nos diferentes biomas brasileiros (EMBRAPA, 2008).

As observações populares sobre a utilização e eficácia de plantas medicinais contribuem de forma relevante para a divulgação científica das virtudes terapêuticas dos vegetais, pois estes apresentam efeitos medicinais que podem diminuir, aliviar ou curar a doença mediante a composição química dos seus extratos vegetais (MACIEL et al., 2002). Ainda segundo o autor de maneira indireta, este tipo de cultura medicinal desperta o interesse de pesquisadores em estudos envolvendo áreas multidisciplinares, como por exemplo, botânica, farmaco-

logia e fitoquímica, que juntas enriquecem os conhecimentos sobre a inesgotável fonte medicinal natural: a flora mundial.

Os produtos naturais são utilizados pela humanidade desde os tempos remotos, pois a busca por alívio e/ou cura das doenças pela ingestão de ervas medicinais e folhas talvez tenha sido umas das primeiras formas de utilização dos povos. A história do desenvolvimento das civilizações Oriental e Ocidental é extremamente rica em exemplos da utilização de recursos naturais na medicina (fitoterapia), no controle de pragas (controle biológico) e em mecanismos de defesa (bioprospecção). A medicina tradicional chinesa desenvolveu-se com tal grandiosidade e eficiência que até hoje muitas espécies vegetais são estudadas de forma biológica e quimicamente na busca pelo entendimento de seu mecanismo de ação no organismo dos seres vivos e no isolamento dos princípios ativos (JUNIOR et al., 2006).

Várias piperáceas contêm óleo essencial nas suas folhas como, por exemplo: *Piper aduncum* (pimenta-de-macaco), *Piper callosum* Ruiz & Pav. (óleo elétrico), *Piper hispidinervum* C. DC. (pimenta-longa), *Piper peltata* (L.) Miq. (caapeba), *Peperomia pellucida* (L.) Kunth. (erva-de-jabutí), dentre outras (SILVA et al., 2013).

Piper arboreum é uma planta que mede aproximadamente 4,0 m de altura. Possui hastes cilíndricas lisas e nodosas de coloração marrom claro (SOUZA et al., 2009). Seguindo ainda os estudos de Souza (2009) relata que o caule, apresenta uma estrutura primária e epiderme unisseriada, com células cuboides ou tabulares, e que, a folha é completa, com bainha proeminente. O limbo tem formato lanceolado, nervação reticulada, bordo inteiro, base inequilátera e ápice acuminado.

Extratos vegetais de várias espécies de *Piper* são utilizadas para várias finalidades, tais como: antimicrobiano, antifúngico, antipirético, aromático, diurético, emético, isca de peixe, comida, alucinógeno, ornamental, perfume, especiarias (FERREIRA, 2010) bem como outros propósitos.

Nos últimos anos tem-se observado, principalmente no ambiente hospitalar, um aumento de infecções por *Candida* spp resistentes a antifúngicos. Esta resistência tem elevado a taxa de insucesso na terapêutica contra esses agentes, causando, consequentemente, aumentos de morbidade e mortalidade (NUNES et al., 2011).

A doença conhecida popularmente como candidíase, apresenta-se como uma infecção fúngica superficial ou profunda causada por leveduras pertencentes ao gênero *Candida* (LIMA et al., 2016).

Na Região Norte do Brasil, porém, há uma grande carência de trabalhos científicos sobre o assunto, principalmente relacionada a esta levedura. Assim, conhecendo os melhores antimicrobianos para o caso, é possível alcançar uma mais eficaz abordagem terapêutica contra estas infecções (NUNES et al., 2011).

Com isso, este trabalho teve como objetivo identificar os metabólitos secundários no extrato etanólico das inflorescências de *P. arboreum* e avaliar seu potencial sobre *C. albicans*.

Material e Métodos

A espécie vegetal foi coletada no município de Porto Velho-RO, com as coordenadas geográficas: Latitude: 8.76183, Longitude: 63.902 8° 45' 43" Sul, 63° 54' 7" Oeste, no mês de março do ano de 2014. Após a coleta, as inflorescências foram levadas para o laboratório de Fitoquímica do Centro Universitário São Lucas, onde foram pesadas frescas e em seguida, colocadas em estufa elétrica Tecnal a 50°C por 72 horas.

Após secas em estufa elétrica para esterilização e secagem, foram trituradas. Utilizando um erlenmeyer iniciou-se o processo de imersão das inflorescências em 85 mL de etanol na concentração de 1mg.mL⁻¹ durante sete dias até ser filtrado, desta forma esse processo seguiu mais duas repetições. O material adquirido da filtragem foi destilado, e o extrato bruto foi utilizado no teste de identificação dos metabólitos secundários sendo analisados e baseados de acordo com a coloração e precipitação de acordo com a metodologia proposta por Radi-Terrones (2007).

Para o reconhecimento dos metabólitos secundários foram feitos os testes com seus respectivos reagentes: alcaloides (Mayer, Wagner e Dragendorff), glicosídeos cardiotônicos (Kedde, Lieberman, Salkowski, Baljet e Raymond-Marthoud), cumarinas, flavonoides, taninos (hidrolisáveis e condensados), saponinas, triterpenos (Liebermann-Burchard e Salkowski) e derivados antracênicos livres (Börntraeger e Antraquinonas livres).

O teste antifúngico foi realizado no laboratório de microbiologia do Centro Universitário São Lucas. Foram utilizados discos com 5mm de diâmetro de culturas de cepas isoladas do fungo *C. albicans* (ATCC 10.231), sendo colocado no meio das placas de Petri contendo Batata Dextrose Agar (BDA), fabricante Acumedia. Em 1mg.mL⁻¹ de extrato das inflorescências de *P. arboreum*, foram imersos durante 1 minuto papeis filtro, sendo obtido para cada disco 0,12mL do extrato. Mais uma vez os papeis filtro estéreis foram imersos, desta vez, em 1mg.mL⁻¹ de água destilada, para teste de controle positivo e em 1mg.mL⁻¹

de produto químico Kasumin® para teste de controle negativo.

Em seguida, as placas foram incubadas a 25°C durante 120 horas. Após 24 horas de incubação, houve a primeira medição do diâmetro das colônias (média de duas medidas diametralmente opostas), seguidas de mais uma repetição a cada 24 horas nos outros quatro dias seguintes. Os dados obtidos dos testes foram analisados de acordo com a variância e as médias comparadas pela Estatística de Tukey e ANOVA a 5%, Programa BIOESTATIC.

Resultados e Discussão

As inflorescências pesadas frescas resultaram em 148,70g, após secas em estufa elétrica a 50°C por 72 horas e trituradas em liquidificador rederam 33,68g. Depois do processo de imersão em 85 mL de etanol, na concentração de 1mg.mL⁻¹, houve três repetições de filtragem e destilação, o extrato bruto adquirido foi de 35mL, usados para o teste de identificação dos metabólitos secundários onde os resultados obtidos foram positivos para alcaloides (Mayer, Wagner e Dragendorff), glicosídeos cardiotônicos (Salkowski e Baljet), cumarinas, flavonoides, taninos (condensados) e triterpenos (Tabela 1). No entanto, obteve-se resultados negativos para glicosídeos cardiotônicos (Kedde, Lieberman, Raymond-Marthoud), taninos (hidrolisáveis) e derivados antracênicos livres com todos os reagentes.

Tabela 1. Resultados positivos dos metabólitos secundários, sendo avaliados coloração e precipitação de acordo com cada reagente específico. / **Table 1.** Positive results of the secondary metabolites, being evaluated staining and precipitation according to each specific reagent.

ALCALOIDES	Coloração/Precipitação
Presença em todos os reagentes testados	De branco a creme
GLICOSÍDEOS CARDIOTÔNICOS	
Reagente de Salkowski	Amarelo
Reagente de Baljet	Laranjado
CUMARINAS	
FLAVONOIDES	Pontos fluorescentes esverdeados
TANINOS	Branco espumoso amarronzado
Condensados	Verde
TRITERPENOS/ESTEROIDES	
Reagente de Liebermann Burchard	Esteroides – Mutável
Reagente de Salkowski	Triterpenos – Estável

A variação de metabólitos secundários pode estar sendo influenciada pelas condições edafoclimáticas, uma vez que a coleta da planta foi realizada no período da tarde, às 15:30h, em Porto Velho-RO. A identificação de metabólitos secundários em espécies vegetais pode ser uma fonte de informação de grande interesse terapêutico, com grande potencial para aplicação em estudos que envolvam a saúde humana (AIRES; LIMA, 2014).

Extratos de diversas espécies de *Piper* possuem aplicações médicas e propriedades inseticidas, bactericidas e fungicidas (CONSTANTI et al., 2001; PESSINI et al., 2003; BARA; VENETTI, 1998). Várias amidas importantes foram isoladas da família Piperaceae, incluindo pirrolidina, hidropiridona e piperidina; estas amidas geram interesses quanto ao seu potencial inseticida (MIYAKO et al., 1989; PARMAR, 1997).

Uma das características das Piperáceas é a associação de ligninas ao grupo metilenedioxifenil, que se apresentam em grande número nas plantas e são consideradas importantes inibidores de monooxigenases dependentes de citocromo P450, e são utilizadas como sinergistas de inseticidas naturais (MUKERIEE et al., 1979; BERNARD et al., 1990).

Verificou-se que o extrato etanólico das inflorescências de *Piper arboreum*, possui potencial fungicida contra cepas de *Candida albicans*. Ao final de 120 horas, usando o extrato vegetal a média de inibição das cepas do fungo foi de 1,69 mm e utilizando o produto químico a média foi de 1,78 mm. No controle positivo, sendo usado água destilada estéril, a média foi de 2,16 mm, e o controle negativo usando etanol a média foi de 2,0 mm (Tabela 2).

Tabela 2. Inibição média (mm) do fungo *C. albicans* submetidos à exposição do extrato vegetal das inflorescências de *P. arboreum* in vitro durante 120 horas. / **Table 2.** Mean inhibition (mm) of fungus *C. albicans* submitted to exposure of the plant extract of *P. arboreum* inflorescences in vitro for 120 hours.

Tratamentos	Horas					
	24	48	72	96	120	Médias
Extrato vegetal	1,53a	1,7 ^a	1,7a	1,76a	1,76a	1,69
Produto químico (Kasumin [®])	1,56a	1,83 ^a	1,83a	1,86a	1,83a	1,78
Água destilada	1,0a	1,5 ^a	2,1aB	2,7aB	3,5aB	2,16
Etanol (1mg.mL ⁻¹)	1,0a	1,4 ^a	2,0aB	2,5aB	3,1aB	2,0

Lima et al. (2016) ao realizarem a atividade biológica do extrato etanólico das folhas de *M. guianensis* sobre *C. albicans* in vitro, observaram que após 120 horas, o extrato etanólico apresentou resultados de inibição do crescimento sobre o fungo, notando que no extrato vegetal a média foi de 1,52mm, demonstrando maior espectro inibitório, se comparado como o produto químico com média de 2,87 mm, etanol 2,11 mm e água destilada 2,9 mm, concluindo que *M. guianensis* apresenta metabólitos secundários e que estes tiveram uma relação direta na inibição de crescimento de *C. albicans*.

Com a realização de caracterização fitoquímica foi possível constatar grupos de compostos químicos provenientes do metabolismo secundário das plantas que podem ter favorecido a inibição média de crescimento fúngico, uma vez que a planta *Piper* tem sido amplamente estudada devido à sua atividade biológica (DESOTI et al., 2011; SANTOS et al., 2011).

Entretanto, observa-se que a realização de testes microbiológicos e farmacológicos complementares torna-se relevante diante da necessidade de estabelecer o real mecanismo de ação dos produtos frente às cepas de *C. albicans* e outras espécies de microrganismos potencialmente patogênicos (ALMEIDA, 2012). Santos et al. (2011), ao verificarem o efeito do óleo essencial de folhas de *P. marginatum* no crescimento in vitro de colônias de *F. oxysporum* verificaram que após 92 horas, colônias de *F. oxysporum* apresentavam diâmetro médio de 22,5 mm quando tratadas com óleo essencial, enquanto que no controle sem o óleo essencial, o diâmetro médio foi de 69,9 mm. Assim, os resultados mostraram que o óleo essencial de folhas de *P. marginatum* tem efeito inibitório sobre o crescimento in vitro de *F. oxysporum*.

Bay-Hurtado et al. (2016) ao realizar um estudo biológico e químico do óleo essencial obtido das raízes de *Piper marginatum* Jacq (Piperaceae) verificou que os componentes químicos majoritários foram sesquiterpenos dentre os quais: (E)-anetol, (Z)-anetol, safrol, germacreno-D, germacreno-B e biciclogermacreno, que apresentaram teores superiores em relação aos demais constituintes, e as classes predominantes dos óleos essenciais foram: monoterpenos, sesquiterpenos e fenilpropânóides e no teste biológico (atividade antioxidante) mostrou-se adequada e expressiva.

Conclusões

Com base nesses resultados obtidos, verificou-se que o extrato etanólico da inflorescência de *P. arboreum* apresenta uma grande variedade de metabólitos secundários e que o mesmo possui atividade candidacida na concentração de 1mg.mL⁻¹. Porém novas concentrações, metodologias e diluições precisam ser testadas in vitro e in vivo.

Agradecimentos

Aos Laboratórios de Microbiologia e Fitoquímica do Centro Universitário São Lucas.

Referências Bibliográficas

- AIRES, I. C. S.; LIMA, R.A. Potencial fungicida do extrato etanólico dos talos de *Piper aduncum* L. (Piperaceae) sobre *Candida albicans* in vitro. *Revista Eletrônica de Biologia*, v. 7, n. 3, p. 270-280, 2014.
- ALMEIDA, L. F. D.; CAVALCANTI, Y. W.; CASTRO, R. D.; LIMA, E. O. Atividade antifúngica de óleos essenciais frente a amostras clínicas de *Candida*

albicans isoladas de pacientes HIV positivos. *Revista Brasileira de Plantas Mediciniais*, v. 14, n. 4, p. 649-655, 2012.

BARA, M. T. F.; VANETTI, M. C. D. Estudo da atividade antibacteriana de plantas medicinais, aromáticas e corantes naturais. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, v. 7, n. 2, p. 21-34, 1998.

BAY-HURTADO, F.; LIMA, R.A.; TEIXEIRA, L.F.; SILVA, I.C.F.; BAY, M.; AZEVEDO, M.S.; FACUNDO, V.A. Atividade Antioxidante e caracterização do óleo essencial das raízes de *Piper marginatum* Jacq. *Ciência e Natura*, v.38, n.3, p.1504-1511, 2016.

BERNARD, C. B.; ARNASON, J. T.; PHILOGENE, B. J. R.; LAM, J.; WADDELL, T. In vivo effect of mixtures of allelochemicals on the life cycle of the European corn borer, *Ostrinia nubilalis*. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, v. 57, n. 1, p. 17-22, 1990.

CONSTANTIL, M. B.; SARTORELLI, P.; LIMBERGER, R.; HENRIQUES, A. T.; STEPPE, M.; FERREIRA, M. J. P.; OHARA, M. T.; EMERENCIANO, V. P.; KATO, M. J. Essential oils from *Piper cernuum* and *Piper regnellii*: antimicrobial activities and analysis by GC/ MS and 13C-NMR. *Biochem Systemy Ecology*, v. 29, n. 2, p. 287-304, 2001.

DESOTI, V. C.; MALDANER, C. L.; CARLETTTO, M. S.; HEINZ, A. A.; COELHO, M. S.; PIATI, D.; TIUMAN, T. S. Triagem fitoquímica e avaliação das atividades antimicrobiana e citotóxica de plantas medicinais nativas da região oeste do estado do Paraná. *Arq. Ciência e Saúde UNIPAR*, v. 15, n. 1, p. 3-13, 2011.

EMBRAPA. Plantas medicinais: do cultivo, manipulação e uso á recomendação popular. **Embrapa Amazônia Oriental**. Belém, PA, 2008.

FERREIRA, M. G. P. R.; KAYANO, A. M.; JARDIM, I. S.; SILVA, T. O. S.; ZULIANI, J. P.; FACUNDO, V. A.; CALDERON, L. A.; SILVA, A. A.; CIANCAGLINI, P.; STÁBELI, R. G. Antileishmanial activity of 3-(3,4,5-trimethoxyphenyl) propanoic acid purified from Amazonian *Piper tuberculatum* Jacq., Piperaceae, fruits. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, v.20, n.6, p.64-70, 2010.

JUNIOR, C. V.; BOLZANI, V. S.; BARREIRO, E. J. Os produtos naturais e a química medicinal moderna. *Química Nova*, v. 29, n. 2, p. 326-337, 2006.

LIMA, I. O.; OLIVEIRA, R. A. G.; LIMA, E. O.; FARIAS, N. M. P.; SOUZA, E. L. Atividade antifúngica de óleos essenciais sobre espécies de *Candida*. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, v. 2, n. 16, p. 197-201, 2006.

LIMA, R. A.; BAY-HURTADO, F.; MENEQUETTI, D. U. O.; PASSARINI, G. M.; FACUNDO, J. B.; MILITÃO, J. S. L. T.; FACUNDO, V. A. Antifungal activities of extract ethanolic from the barks of *Maytenus guianensis* klotzsch ex reissek on *Candida albicans*. *Biota Amazônia*, v. 6, n. 2, p. 56-61, 2016.

MACIEL, M. A. M.; PINTO, A. C.; JUNIOR, V. F. V. Plantas Medicinais: A necessidade de estudos multidisciplinares. *Química Nova*, v. 25, n. 3, p. 429-438, 2002.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. **Programa nacional de plantas medicinais e fitoterápicos**. Secretaria de Ciência, Tecnologia e Insumos Estratégicos. Departamento de Assistência Farmacêutica e Insumos Estratégicos. Brasília, DF: Ministério da Saúde, 2009.

MIYAKO, M.; NAKAYAMA, I.; OHNO, N. (Eds.). **Insecticides of Plant Origin**. ACS Symposium Series. Washington: American Chemical Society, 1989.

MUKERIEE, S. K.; SAXENA, V. S.; TOMAR, S. S. New methylenedioxyphenyl synergists for pyrethrins. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v. 27, n. 2, p. 1209-1211, 1979.

NUNES, E. B.; MONTEIRO, J. C. M. S.; NUNES, N. B.; PAES, A. L. V. Perfil de sensibilidade do gênero *Candida* a antifúngicos em um hospital de referência da Região Norte do Brasil. *Revista Pan-Amazônica de Saúde*, v. 4, n. 2, p. 23-30, 2011.

PARMAR, V. S.; JAIN, S. C.; BISHT, K. S.; JAIN, R.; TANEJA, P.; JHA, A.; TYAGI, O. D.; PRASAD, A. K.; WENGEL, J.; OLSEN, C. E.; BOLL, P. M. Phytochemistry of the genus *Piper*. *Phytochemistry*, v. 46, n. 4, p. 597-673, 1997.

PESSINI, G. L.; SANCHES, N. R.; CORTEZ, D. A. G.; DIAS-FILHO, B. P.; NAKAMURA, C. V. Avaliação da atividade antibacteriana e antifúngica de extratos de plantas utilizados na medicina popular. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, v. 13, n. 1, p. 21-24, 2003.

RADI, P. A.; TERRONES, M. G. H. Metabólitos secundários de plantas medicinais. *Revista Brasileira de Farmácia*, v. 20, n. 2, p. 18-22, 2007.

SANTOS, M. R. A.; LIMA, R. A.; FERNANDES, C. F.; SILVA, A. G.; FACUNDO, V. A. Antifungal activity of *Piper marginatum* L. (PIPERACEAE) essential oil on in vitro *Fusarium oxysporum* (SCHLECHT). *Revista Saúde e Pesquisa*, v. 4, n. 1, p. 09-14, 2011.

SILVA, A. L.; CHAVES, F. C. M.; LAMEIRA, R. C.; BIZZO, H. R. Rendimento e composição do óleo essencial de *Piper aduncum* L. cultivado em Manaus, AM, em função da densidade de plantas e épocas de corte. *Revista Brasileira de Plantas Mediciniais*, v.15, n.4, p.670-674, 2013.

SOUZA, L. A.; ALBIEIRO, A. L. M.; ALMEIDA, O. J. G.; LOPES, W. A. L.; MOURÃO, K. S. M.; MOSCHETA, I. S. Estudo Morfo-anatômico da Folha e do Caule de *Piper arboreum* Aubl. (Piperaceae). *Latin American Journal of Pharmacy*, v. 8, n. 1, p. 103-117, 2009.